

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 06-184201

(43)Date of publication of application : 05.07.1994

(51)Int.Cl.

C08B 37/00  
C08B 30/20  
C12P 19/14  
C12P 19/16  
// C07H 1/08  
C07H 3/06

(21)Application number : 05-232599

(71)Applicant : HAYASHIBARA BIOCHEM LAB INC

(22)Date of filing : 13.08.1993

(72)Inventor : MIYAKE TOSHIO  
SAKAI SHUZO  
SHIBUYA TAKASHI

## (54) PRODUCTION OF CARBOHYDRATE HIGHLY CONTAINING MALTOPENTAOSE

## (57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a highly pure carbohydrate useful as an additive to various beverages, various foods, cosmetics, etc., as a raw material for chemicals, etc., by treating a starch solution with  $\alpha$ -amylase and a starch branch cutting enzyme, purifying the produced maltopentaose, and collecting the purified product.

CONSTITUTION: A saccharide solution containing a highly maltopentaose-containing carbohydrate produced by treating a starch solution with  $\alpha$ -amylase and a starch branch cutting enzyme (e.g. pullulanase) is flown into a column filled with an alkali metal type or alkaline earth metal type acidic cation exchange resin having a crosslinking degree of  $\leq 6\%$ . Subsequently, the adsorbed substances are eluted with water to successively fractionate a fraction highly containing saccharides having mol.wt. same as or higher than that of maltohexaose, a fraction highly containing oligo saccharides and maltopentaose having mol.wt. some as or higher than that of the maotohexaose, a fraction highly containing the maltopentaose, a fraction highly containing saccharids having mol.wt. same as or lower than that of maltotetraose, and a fraction highly containing oligosaccharides having mol.wt. some as or lower than that of the maltotetraose. The highly maltopentaose-containing fraction is collected to provide the objective carbohydrate having a high quality.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 13.08.1993

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 1996643

[Date of registration] 08.12.1995

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right] 10.02.2003

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11) 特許出願公告番号

特公平7-14962

(24) (44) 公告日 平成7年(1995)2月22日

(51) Int. Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I
C08B 37/00		G 7433-4C	
30/20		7433-4C	
C12P 19/14		Z 7432-4B	
19/16		7432-4B	
// C07H 1/08			

発明の数 1 (全 5 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平5-232599
(62) 分割の表示	特願昭58-19550の分割
(22) 出願日	昭和58年(1983)2月10日
(65) 公開番号	特開平6-184201
(43) 公開日	平成6年(1994)7月5日

(71) 出願人	000155908 株式会社林原生物化学研究所 岡山県岡山市下石井1丁目2番3号
(72) 発明者	三宅 俊雄 岡山県岡山市奥田1丁目7番10-403号
(72) 発明者	堺 修造 岡山県赤磐郡瀬戸町江尻旭ヶ丘1丁目3番地 地の41
(72) 発明者	渋谷 孝 岡山県総社市下原318番地

審査官 弘實 謙二

(54) 【発明の名称】 マルトペンタオース高含有糖質の製造方法

1

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 澱粉溶液に $\alpha$ -アミラーゼと澱粉枝切酵素とを作用させることによりマルトペンタオースを生成させ、これを精製、採取することを特徴とするマルトペンタオース高含有糖質の製造方法。

【請求項2】 澱粉溶液に $\alpha$ -アミラーゼと澱粉枝切酵素とを作用させるのに、酸性側で作用させることを特徴とする請求項1記載のマルトペンタオース高含有糖質の製造方法。

【請求項3】 澱粉溶液に $\alpha$ -アミラーゼと澱粉枝切酵素とを作用させることにより得られるマルトペンタオース高含有糖質を含有する糖液を、架橋度が6%以下のアルカリ金属型またはアルカリ土類金属型強酸性カチオン交換樹脂を充填したカラムに流し、次いで水で溶出し、マルトヘキサオース以上の高分子オリゴ糖高含有画分、

2

マルトヘキサオース以上の高分子オリゴ糖・マルトペンタオース高含有画分、マルトペンタオース高含有画分、マルトペンタオース・マルトテトラオース以下の低分子オリゴ糖高含有画分、マルトテトラオース以下の低分子オリゴ糖高含有画分の順に分画し、このマルトペンタオース高含有画分を採取することを特徴とする請求項1または請求項2記載のマルトペンタオース高含有糖質の製造方法。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、澱粉からのマルトペンタオース高含有糖質の製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】 マルトペンタオースは、通常、水飴に含まれており、その含量は、10w/w% (以下、本明細

書では、特にことわらない限り、「w/w%」を「%」と略記する。)未満と、きわめて低いものである。

【0003】一方、斉藤は、アーカイブス・オブ・バイオケミストリー・アンド・バイオフィジックス (ARCHIVES OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS) 第155巻 第290乃至第298頁(1973年)で、バチルス・リケニフォルミス (*Bacillus licheniformis*) からの $\alpha$ -アミラーゼ(マルトペンタオース生成 $\alpha$ -アミラーゼとも云っている。)をアミロースに作用させることにより、マルトペンタオース含量33.3%の反応物を得たことを報告している。

【0004】しかしながら、ここで採用されている方法は、基質濃度0.5乃至1.0%の希薄溶液に $\alpha$ -アミラーゼをアルカリ側のpH 8.0で作用させており、反応物が、該酵素の作用中、その後における濃縮中に著しく褐変、着色し、到底、工業的に採用し得ない欠点のあることが知られている。

【0005】その上、マルトペンタオースの特性を利用しようとする糖質としては、マルトペンタオースの含量が、なお不充分である。

【0006】このようなことから、マルトペンタオース含量をより高めた高品質のマルトペンタオース高含有糖質の工業的製造方法の確立が望まれている。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、高品質のマルトペンタオース高含有糖質の工業的製造方法を提供しようとするものである。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明者等は、前記課題を解決するために、澱粉からのマルトペンタオース増収方法、とりわけ、澱粉溶液の利用と、これに作用させる酵素、並びに、その作用pHに着目して鋭意研究した。

【0009】その結果、意外にも、澱粉溶液に $\alpha$ -アミラーゼとイソアミラーゼ、プルラーゼなどの澱粉枝切酵素とを作用させる方法が、アミロースに $\alpha$ -アミラーゼを作用させる方法よりも高含量のマルトペンタオースを生成できると共に、高濃度で作用できることが判明し、しかも、安定pHが中性乃至アルカリ性側にある $\alpha$ -アミラーゼを、あえて酸性側pHで作用させ、得られる反応液を精製、採取することにより、澱粉から高品質のマルトペンタオース高含有糖質が容易に製造できることを見だし、本発明を完成した。

【0010】また、このようにして得られたマルトペンタオース高含有糖質を含有する糖液から、より高純度のマルトペンタオースを製造するため、樹脂分画法に着目して鋭意研究した。

【0011】その結果、該糖液を、架橋度が6%以下のアルカリ金属型またはアルカリ土類金属型強酸性カチオン交換樹脂を充填したカラムに流し、次いで水で溶出

し、マルトヘキサオース以上の高分子オリゴ糖(以下、L糖という。)高含有画分、L糖・マルトペンタオース高含有画分、マルトペンタオース高含有画分、マルトペンタオース・マルトテトラオース以下の低分子オリゴ糖(以下、S糖という。)高含有画分、S糖高含有画分の順に分画し、このマルトペンタオース高含有画分を採取することにより、容易にきわめて高純度のマルトペンタオースが製造でき、工業的製法として好適であることを見だし、本発明を完成した。

【0012】本発明で使用する澱粉は、馬鈴薯澱粉、甘薯澱粉、タピオカ澱粉などの地下系澱粉であっても、とうもろこし澱粉、米澱粉、小麦澱粉などの地上系澱粉であってもよい。

【0013】澱粉乳の濃度は、澱粉が完全に糊化できればよく、通常、5%以上のものが選ばれる。必要ならば、常法に従って、液化した澱粉溶液、望ましくは、DE 5未満に液化した澱粉溶液を用いることも有利に実施できる。

【0014】次いで、酸性側pH、望ましくは、pH 4.5乃至6.0に保って、 $\alpha$ -アミラーゼと澱粉枝切酵素とを加え、温度約40乃至60℃に保って作用させればよい。

【0015】本発明で使用する $\alpha$ -アミラーゼは、澱粉からマルトペンタオースを生成するものであればよく、例えば、公知のバチルス・リケニフォルミスなどの細菌由来の酵素、または、酵素剤などが使用される。

【0016】澱粉枝切酵素としては、公知のイソアミラーゼ、プルラーゼなどが適宜使用できるが、とりわけ、酸性側でよく作用するイソアミラーゼの利用が好適である。

【0017】このようにして反応を終了した糖液は、常法に従って、加熱し、酵素を熱失活させた後、濾過し、次いで、活性炭で脱色し、イオン交換樹脂で脱塩するなどの精製工程を経た後、適宜濃度に濃縮して、マルトペンタオース高含有糖液を採取すればよい。

【0018】このようにして得られるマルトペンタオース高含有糖液は、そのマルトペンタオース含量が、従来から知られているアミロースに $\alpha$ -アミラーゼのみを作用させて得られる糖液よりも高く、約35%以上、とりわけ、澱粉枝切酵素としてイソアミラーゼを用いる場合には、容易に約40%にも達することが判明した。

【0019】その上、本発明においては、 $\alpha$ -アミラーゼを、従来知られている希薄なアミロース溶液にアルカリ側pHで作用させる場合とは違って、高濃度の澱粉溶液に酸性側pHで澱粉枝切酵素とともに作用させるものであることから、反応液の褐変、着色が少なく、微生物汚染も受けにくく、従って、反応液の精製が容易であり、高品質のマルトペンタオース高含有糖質の大量生産方法として好適である。

【0020】次に、前述のマルトペンタオース高含有糖

質を含有する糖液を原糖液として、さらに高純度のマルトペンタオースを含有するマルトペンタオース高含有糖質を得るための樹脂分画法について述べる。

【0021】本発明で使用するアルカリ金属型またはアルカリ土類金属型強酸性カチオン交換樹脂には、スルホン基を結合したスチレンージビニルベンゼン架橋共重合体樹脂の $\text{Na}^+$ 型、 $\text{K}^+$ 型などのアルカリ金属塩型、または $\text{Ca}^{++}$ 、 $\text{Mg}^{++}$ 型などのアルカリ土類金属塩型の1種または2種以上が適宜使用され、市販品としては、例えば、ダウケミカル社製造の商品名グウェツクス 50W×1、ダウエツクス 50W×2、ダウエツクス 50W×4、ローム&ハース社製造の商品名アンバーライト CG-120、東京有機化学工業株式会社製造の商品名 XT-1022E、XT-1007、三菱化成工業株式会社製造の商品名ダイヤイオン SK1B、ダイヤイオン SK 102、ダイヤイオン SK 104 などがあ

る。なかでも、架橋度6%以下の樹脂が好適であることが判明した。

【0022】本発明でいう架橋度とは、スチレンージビニルベンゼン架橋共重合体を製造するに際し、全仕込モノマーに対するジビニルベンゼンの重量百分率(%)をいう。

【0023】これらの樹脂は、マルトペンタオース高含有画分の分画に優れているだけでなく、耐熱性、耐摩耗性にも優れ、高純度のマルトペンタオースの大量生産に極めて有利である。

【0024】本発明では、通常0.01~0.5mm程度の粒径の樹脂をカラムに充填して使用すればよい。カラム内に充填する樹脂層の長さは、全長で9m以上が望ましく、この際1本のカラムで9m以上にしても、また2本以上のカラムを直列に連結して9m以上にしてもよい。カラムの材質、形状は、本発明の目的が達成できる限り自由に選択できる。即ち、その材質は、例えば、ガラス、プラスチック、ステンレスなどが利用でき、その形状は充填した樹脂層内を通す液ができるだけ層流になる例えば、円筒状、角筒状などが適宜利用できる。

【0025】更に、本発明の実施方法をより具体的に述べる。

【0026】アルカリ金属型またはアルカリ土類金属型強酸性カチオン交換樹脂を水に懸濁してカラムに充填し、樹脂層の全長が通常9m以上になるようにする。このカラム内の温度を45~85℃に維持しつつ、これに濃度約40~70%の原糖液を樹脂に対して約1~50v/v%加え、これに水をSV約0.1~2.0の流速で上昇法または下降法により流して溶出し、原糖液をL糖高含有画分、L糖・マルトペンタオース高含有画分、マルトペンタオース高含有画分、マルトペンタオース・S糖高含有画分、S糖高含有画分の順に分画し、そのマルトペンタオース高含有画分を採取すればよい。

【0027】この際、溶出液の採取は、通常、使用樹脂

に対して約1~20v/v%毎に行なわれるが、これを自動化し、前記画分に振り分けるようにしてもよい。

【0028】また、原糖液をカラムに流して分画するに際し、既に得られているL糖・マルトペンタオース高含有画分及びマルトペンタオース・S糖高含有画分を原糖液の前後に、または原糖液とともに流すことにより、分画に要する使用水量を減少させ、原糖液中のマルトペンタオースを高純度、高濃度、高回収率で採取できるので好都合である。

【0029】一般的には、既に得られているL糖・マルトペンタオース高含有画分を流した後に原糖液を流し、次いで既に得られているマルトペンタオース・S糖高含有画分を流すという順序を採用するのが好ましい。また、本発明で使用する分画法は、固定床方式、移動床方式、擬似移動床方式のいずれであってもよい。

【0030】このようにして分画し、採取されたマルトペンタオース高含有画分を、そのまま用いることもできるが、必要ならば、常法に従い脱色、脱塩して精製し、更には、例えば濃縮してシラップとするか、または乾燥、粉末化して粉末を採取することも自由にできる。

【0031】このようにして製造されたマルトペンタオース高含有糖質は、試薬、診断薬、医薬などとしては勿論のこと、各種飲食品、化粧品などの配合剤、化学品原料などとしても有利に利用することができる。

【0032】以下、本発明におけるマルトペンタオース高含有糖質の製造方法を、実施例で説明する。

【0033】

【実施例1】6%馬鈴薯澱粉乳を加熱糊化させた後、pH 4.5、温度50℃に調整し、これにイソアミラーゼ(株式会社林原生物化学研究所製造)を澱粉グラム当たり2,500単位の割合になるように加え、20時間反応させた。その反応液をpH 6.0に調整し、オートクレーブ(120℃)を10分間行ない、次いで45℃に冷却し、これに $\alpha$ -アミラーゼ(ノボ社製造、商品名ターマミール60L)を澱粉グラム当たり150単位の割合になるように加え、24時間反応させた。その反応液をオートクレーブ(120℃)に20分間保った後、冷却し、濾過して得られる濾液を、常法に従って活性炭で脱色し、H型及びOH型イオン交換樹脂により脱塩して精製し、更に濃縮して濃度55%の糖液を収率約90%で得た。

【0034】この糖液の糖組成は、グルコース重合度が4以下の糖類47.5%、マルトペンタオース40.3%、グルコース重合度が6以上の糖類12.2%であった。

【0035】本品は、各種飲食品、化粧品などの配合剤、化学品原料などとして有利に利用できる。また、使用目的によっては、更に、濃縮して使用することもできる。

【0036】

【実施例2】実施例1で調製したマルトペンタオース含量40.3%の糖液を、さらに高純度なものとするため、この糖液を原糖液として、樹脂分画法を行なった。樹脂は、アルカリ土類金属型強酸性カチオン交換樹脂（ダウケミカル社製造、商品名ダウエックス50W×4、 $Mg^{++}$ 型、架橋度4%）を使用し、内径5.4cmのジャケット付ステンレス製カラムに水懸濁液で充填し、その液が直列に流れるようにカラム6本を連結して樹脂層全長が30mになるように充填した。

【0037】カラム内温度を75℃に維持しつつ、原糖液を樹脂に対して6.6v/v%加え、これに75℃の温水をSV0.13の流速で流して分画した。

【0038】得られた分画品を、溶出順に再度カラムにかけて分画し、マルトペンタオース含量90%以上のマルトペンタオース高含有画分を採取した。

【0039】マルトペンタオースの回収率は約85%であった。

【0040】本マルトペンタオース高含有画分を、実施

#### 架 橋 度 と 使 用 樹 脂

架 橋 度	商 品 名	製造会社
1%	ダウエックス50W×1	ダウケミカル
2%	ダイヤイオンSK102	三菱化成工業
4%	ダウエックス50W×4	ダウケミカル
6%	ダイヤイオンSK106	三菱化成工業
8%	ダウエックス50W×8	ダウケミカル
10%	ダイヤイオンSK110	三菱化成工業
12%	ダイヤイオンSK112	三菱化成工業

【0046】カラムは、内径2.2cmのジャケット付ステンレス製で、これに樹脂を樹脂層長が10mになるように充填した。カラム内温度を70℃に維持しつつ、これに濃度40%とした原糖液を樹脂に対して10v/v%加え、更に70℃の温水をSV0.4の流速で流し、溶出される糖液を溶出順に分画採取した。

【0047】カラムから糖の溶出が終了に近づいた時点で、カラムへの温水の注入を止め、代わりに、先に分画採取した糖液を溶出順に加え、続いて同様に温水を流した。このような操作を5回繰り返して、L糖高含有画分、L糖・マルトペンタオース高含有画分、マルトペン

例1の方法に従い、脱色、脱塩して精製することにより、マルトペンタオース高含有糖質を得た。

【0041】さらに、この糖質を、常法に従って乾燥、粉末化することにより、高純度マルトペンタオース粉末を得た。

【0042】これらは、何れも、試薬、診断薬、医療などとして使用できることは勿論のこと、各種飲食品、化粧品などの配合剤、化学品原料などとしても有利に利用することができる。

【0043】

【実施例3】実施例1で調製したマルトペンタオース含量40.3%の糖液を、さらに高純度なものとするため、この糖液を原糖液として樹脂分画法を行なった。

【0044】樹脂として、架橋度の相違する表1に示す市販の強酸性カチオン交換樹脂（ $Na^{+}$ 型）を、その平均粒径を0.1~0.3mmに調製して使用した。

【0045】

【表1】

タオース高含有画分、マルトペンタオース・S糖高含有画分、S糖高含有画分の順に溶出分画し、90%以上の高純度マルトペンタオースを含有している画分を採取した。

【0048】得られた高純度画分中のマルトペンタオース含量の使用した原糖液中のマルトペンタオース含量に対する百分率をマルトペンタオース回収率とした。その結果を表2に示した。

【0049】

【表2】

## 架橋度とマルトペンタオース回収率

架 橋 度	マルトペンタオース 回 収 率	
1 %	8 2 %	本 発 明
2 %	9 3 %	本 発 明
4 %	9 4 %	本 発 明
6 %	8 1 %	本 発 明
8 %	1 5 %	
1 0 %	5 % 未 満	
1 2 %	5 % 未 満	

表 2 の結果から明らかなように、架橋度が 6 % 以下の強酸性カチオン交換樹脂を用いて前記方法で原糖液を溶出分画することにより、9 0 % 以上の高純度マルトペンタオースを、原糖液中のマルトペンタオースが 8 0 % 以上の高回収率で得られた。

【0 0 5 0】これらを、実施例 1 の方法に従って、脱色、脱塩して精製することにより、何れも、試薬、診断薬、医薬などとして使用できることは勿論のこと、各種飲食品、化粧品などの配合剤、化学品原料などとしても有利に利用することができる。

【0 0 5 1】

【発明の効果】本発明は、上記したことから明らかなよ

うに、澱粉溶液に  $\alpha$ -アミラーゼと澱粉枝切酵素とを酸性側の pH で作用させることにより、高品質のマルトペンタオース高含有糖質を製造し得ると共に、更にこのマルトペンタオース高含有糖質を含有する糖液を架橋度 6 % 以下の塩型強酸性カチオン交換樹脂を充填したカラムに流して分画することにより、更に、高純度のマルトペンタオースを高回収率で製造し得る実益を有する。

【0 0 5 2】そして、このようにして得られたマルトペンタオース高含有糖質は、試薬、診断薬、医療などとしては勿論のこと、各種飲食品、化粧品などの配合剤、化学品原料などとしても有利に利用できる効果を有する。

30

フロントページの続き

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>  
C 0 7 H 3/06

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所